血小板・巨核球造血を制御する新規骨髄間質細胞 BM FRC-like cell の遺伝子発現プロファイリング

田村彰吾

名古屋大学大学院医学系研究科 医療技術学専攻 病態解析学講座

【研究の背景】

骨髄における造血は骨髄間質細胞や細胞外マトリックスなどの骨髄内環境により制御される[1, 2]。2016 年、我々は血小板・巨核球造血微小環境を形成する新規骨髄間質細胞「bone marrow fibroblastic reticular cell-like cell(BM FRC-like cell)」を世界で初めて発見した[3]。巨核球分化・成熟を支持する骨髄間質細胞の存在は新しい概念であり、今後 BM FRC-like cell を中心に血小板・巨核球造血微小環境の解析が広く展開されることが予想される。しかし、BM FRC-like cell はその細胞特性が明らかではなく、BM FRC-like cell を標的にした KO マウスなどの実験モデルが確立できていない。

【目　　的】

本研究の目的は BM FRC-like cell が制御する骨髄環境形成機構の解明に向けた実験基盤の構築である。今回、その基盤的知見を得るために BM FRC-like cell の細胞特性解析として、網羅的遺伝子発現プロファイリングを行った。

【方　　法】

野生型マウス(C57BL/6)の大腿骨および脛骨から骨髄を採取し、溶血後、磁気ビーズによって hematopoietic lineage depletion を行った。Lineage-depleted BM cell からの BM FRC-like cell の分離は FACS AriaII によるソーティングで行い、細胞は Trizol に直接ソーティングした。比較細胞として、リンパ節 FRC(LN FRC)、リンパ管内皮細胞(LEC)と骨髄血管内皮細胞(BMEC)と骨芽細胞を同様に Trizol に直接ソーティングした。Total RNA の抽出後、GeneChip WT-Pico Reagent Kit で RNA を増幅し、GeneChip Mouse Gene 2.0 ST Array で網羅的遺伝子発現プロファイリングを行った。

【結　　果】

BM FRC-like cell において 5 倍以上もしくは 5 倍以下の発現量増減を認めた遺伝子は、LN FRC との比較で 2196 遺伝子、LEC との比較で 2145 遺伝子、BMEC との比較で 1131 遺伝子であった。興味深いことに、BM FRC-like cell はどの比較細胞に対しても *Runx2*, *Sp7* (Osterix)といった骨芽細胞系転写因子が高発現であった。しかし、骨芽前駆細胞が骨芽細胞に分化・成熟する際の転写因子 *Arf4* はむしろ発現量が減少していた。この知見から、BM FRC-like cell と骨芽細胞との近似性が考えられた。そこで BM FRC-like cell と骨芽細胞との遺伝子発現プロファイルを比較したところ、BM FRC-like cell 特異的に発現の増減が認められた遺伝子は 1524 遺伝子であった。骨芽細胞系転写因子(*Runx2*, *Sp7*)は BM FRC-like cell と骨芽細胞では大きな差は認められなかったが、やはり *Arf4* の発現低下の傾向が認められた。なお、BM FRC-like cell は非造血系細胞であるにも関わらず、今回比較した全ての細胞に比べて *Hbb-bt* (hemoglobin, beta adult t chain)が極めて高発現であった。

【考　　察】

遺伝子プロファイリングの結果、BM FRC-like cell は骨芽細胞系の特性を保持する骨髄間葉系細胞である可能性が考えられた。また、今回 BM FRC-like cell 特異的に高発現が認められる遺伝子(e.g., *Hbb-bt*)を見出した。BM FRC-like cell 特異的発現遺伝子は Cre-loxp システムによる BM FRC-like cell 特異的コンディショナル KO マウスの作製に応用可能である。今後、詳細な解析を重ね、BM FRC-like cell が制御する骨髄環境形成機構の解明に向けた実験基盤の構築を進めていきたい。

【参考・引用文献】

1. Malara A and Balduini, A: Blood platelet production and morphology. Thromb. Res 129: 241-244, 2012.
2. Asada N, Takeishi S, Frenette PS. Complexity of bone marrow hematopoietic stem cell niche. Int J Hematol. 2017 Jul;106(1):45-54.
3. Tamura S, Suzuki-Inoue K, Tsukiji N, et al: Podoplanin-positive periarteriolar stromal cells promote megakaryocyte growth and proplatelet formation in mice by CLEC-2. Blood 31;127(13):1701-10, 2016.